



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 41 24 778 A 1**

⑤1 Int. Cl. 5:
G 01 N 33/48
G 01 N 33/96
G 01 N 33/80
G 01 N 30/48

②1 Aktenzeichen: P 41 24 778.7
②2 Anmeldetag: 26. 7. 91
④3 Offenlegungstag: 28. 1. 93

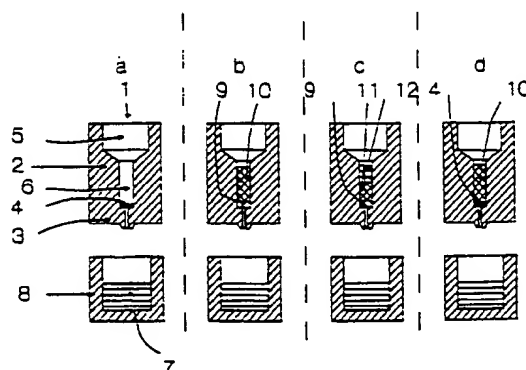
DE 41 24 778 A 1

⑦1 Anmelder:
Friedrich-Schiller-Universität Jena, O-6900 Jena, DE

⑦2 Erfinder:
Horn, Anton, Prof. Dr.; Horn, Barbara, Dr.; Ehle,
Heidrun, Dr., O-6900 Jena, DE

⑤4 Verfahren und Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen

⑤7 Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen, wobei die Reaktionspartner in eine Mikrosäule gegeben werden. Die Agglutinationsreaktion erfolgt in der Mikrosäule, vorzugsweise vor Durchlauf der Reaktionspartner durch die Gelmatrix. Agglutinierte und nichtagglutinierte Partikel werden vorzugsweise mittels durch Krafteinwirkung beschleunigter Filtration getrennt. Das nichtagglutinierte Partikel enthaltende Eluat wird nach Verlassen der Mikrosäule einer quantitativen Analyse unterzogen.



DE 41 24 778 A 1

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen.

Agglutinationsreaktionen werden im großen Umfang traditionsgemäß in der Blutgruppenserologie durchgeführt. In letzter Zeit ist auch ein sehr starker Zuwachs an Publikationen zu spezifischen Agglutinationstesten für eine Reihe von Proteinen und anderen Liganden festzustellen. Für diese Tests werden in der Regel Antikörper gegen die zu bestimmende Substanz an speziell präparierte Erythrozyten oder definierte Partikel, sehr häufig Latexpartikel, gebunden. Es gibt eine Vielfalt von Variationsmöglichkeiten beim Einsatz solcher Tests.

Die Auswertung der Agglutinationsreaktion erfolgt überwiegend semiquantitativ durch visuelle Beobachtung oder nach Verdünnung wenigstens eines der Reaktanden in Titerstufen.

Versuche zur quantitativen Auswertung von Agglutinationsreaktionen unter Nutzung von Bildauswerteverfahren, von speziellen Verfahren zur Messung der Verteilung von freien Reaktanden und Agglutinaten in Mikrotiterplatten sind aufwendig und bedürfen einer großen Zahl von Kontrolluntersuchungen, da besonders im Falle von schwach ausgebildeten Agglutinaten die Differenzierung zur Nichtagglutination schwierig ist. Spezielle Automaten zur Blutgruppenbestimmung sind aufwendig und sehr teuer. Hinzu kommt, daß besonders in der Blutgruppenserologie spezielle Erythrozyteneigenschaften, beispielsweise im Coombs-Test, erst nach mehrfacher Waschung der Erythrozyten bestimmbar sind. Diese Waschschritte sind zeitaufwendig und umständlich und erlauben keine einheitliche Probenhandhabung im Gesamtprozeß der Analyse. Es ist seit langem bekannt, daß Erythrozyten und andere Zellen in geeigneten Medien durch Molekularsiebgele von niedermolekularen Begleitstoffen getrennt werden können.

Darüberhinaus ist bekannt, daß Agglutinate von Erythrozyten bestimmte Agarosegele nur schwer passieren können. Durch visuelle Besichtigung solcher Anordnungen, die als geschlossene Zentrifugenröhrchen ausgebildet sind, lassen sich Agglutinationsreaktionen mit Erythrozyten semiquantitativ beurteilen.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde ein kostengünstiges, praktikables, breit einsetzbares und automatisierbares Analysesystem für Agglutinationsreaktionen zu schaffen, welches die sichere Analyse von Agglutinationen auch nach der essentiellen Entfernung von störenden Begleitstoffen semiquantitativ und quantitativ erlaubt.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß die Reaktionspartner in eine Mikrosäule eingebracht werden, daß die Agglutinationsreaktion in der Mikrosäule erfolgt, daß nach der Agglutinationsreaktion eine Trennung von Agglutinaten und nicht verbrauchten Reaktionspartnern durch Stofftrennung nach Partikelgröße unter Krafteinwirkung erfolgt, daß die nichtagglutinierten Partner unter der Mikrosäule aufgefangen werden, und daß der Verbrauch von Reaktionspartnern im Durchlauf bestimmt wird. Die Stofftrennung nach Partikelgröße kann entweder durch Molekularsiebgele oder durch Filtration, entweder über speziellen Filtern oder durch Filterhilfen erfolgen. Zur Bewegung des zu trennenden Stoffgutes können die Gravitationskraft, Zentrifugalkraft, hydrostatischer Druck oder Luftdruck eingesetzt werden. Ebenso kann ein elektrisches oder magnetisches Feld zur Trennung eingesetzt

werden.

Der Einsatz des Verfahrens wird erweitert dadurch, daß zumindest ein Reaktionspartner mit einer Markersubstanz fest verbunden wird. Solche Markersubstanzen können radioaktive Isotope, Enzyme, Lumineszenzmarker, Fluoreszenzmarker oder biospezifische Liganden mit hoher Affinität zu Substanzen sein, die sich leicht analytisch nachweisen lassen. Markierung mit magnetischen Partikeln führt zu einer weiteren Möglichkeit der Erweiterung des Einsatzes des Systems. Die Kopplung von Reaktionspartnern an Latex- oder andere Partikel erschließt den Einsatz der bekannten Partikelagglutinationstechniken. Die Messung der natürlichen Eigenschaften von Teilnehmern, beispielsweise der Trübung der Lösung von Erythrozytensuspensionen, sichert den Einsatz in der Blutgruppenserologie und bildet die Grundlage für universelle Blutgruppenautomaten.

Werden vor der eigentlichen Agglutinationsreaktion in der Säule Abtrennungsschritte, die die Prinzipien der Chromatographie nutzen, vorgesehen, so kann die Spezifität der Technik stark erweitert werden. Mit Molekularsiebgele können niedermolekulare Begleitstoffe abgetrennt werden. Der Einsatz von spezifischen Immunoliganden erlaubt hochspezifisch nahezu jeden beliebigen Begleitstoff zu entfernen. Auch andere Affinitätsgele und unspezifische Chromatographiegele können zur Entfernung von Begleitstoffen vor der Agglutination genutzt werden.

Die zur Durchführung des Verfahrens vorgesehene Anordnung trennt in einer Mikrosäule einen eingangseitigen Teil von einem ausgangseitigen Teil durch ein Filterelement. Paßfähig zur Mikrosäule ist ein lösbares Auffanggefäß vorgesehen, in dem der Durchlauf aufgenommen wird. In diesem Auffanggefäß kann die Analyse der Agglutinationsreaktion entweder direkt durch optische Messungen der Eigenschaften der markierten oder unmarkierten Reaktanten, oder nach Zwischenschaltung eines Hilfsschrittes erfolgen. Die schichtweise Anordnung verschiedener Chromatographiematerialien in der Mikropule erlaubt die Realisierung der Vorabtrennung verschiedener Begleitstoffe. Eine Erweiterung des Eingangsteils der Mikrosäule gestattet das Mischen der Reaktanden. Die Anordnung der Einzelsäulen und Auffanggefäße in bestimmten Reihen und Matrixanordnungen erlaubt einen hohen Probendurchsatz und die Automatisierung des Verfahrens. Besonders günstig ist die paßfähige Anordnung der Mikrosäulen zu Mikrotiterplatten, da für viele analytische Fragen sofort kommerziell erhältliche Mikrotiterplatten-Reader eingesetzt werden können.

Die gesamte Anordnung kann in Zentrifugenrotoren eingesetzt werden, wenn die Stofftrennung durch Zentrifugalkraft erfolgt. Durch die Anbringung geeigneter Verbindungsstücke zu Pipetten und Multipipetten kann die Stofftrennung vorteilhaft auch durch Flüssigkeitsdruck oder Luftdruck erfolgen.

Die Erfindung wird durch 9 Ausführungsbeispiele erläutert. Es zeigt

Fig. 1 Mikrosäulen und Auffanggefäße

Fig. 1a Mikrosäule mit Filter

Fig. 1b Mikrosäule mit Filterelement und Chromatographiematerial

Fig. 1c Mikrosäule mit Filterelement und zwei verschiedenen Chromatographiematerialien

Fig. 1d Mikrosäule mit Filter und einem Chromatographiematerial

Fig. 2 Pluralität von Mikrosäulen (Mikrosäulenkam-

mer), Auffanggefäßen (Mikrotiterplatte) und Pipetten (Mehrkanalpipetten)

Anwendungsbeispiel 1 — Mikrosäule zur Filtration

Die Fig. 1a zeigt die Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen bestehend aus einer Mikrosäule (1), die aus einem eingangsseitigen Teil (2) und einem ausgangsseitigen Teil (3), getrennt durch ein Filter (4), zusammengesetzt ist. Der eingangsseitige Teil enthält eine Erweiterung (5) zum Einbringen und Mischen der Reaktanden und einen Säulenteil (6). Der Säulendurchlauf (7) wird in einem Auffanggefäß (8) aufgefangen.

Anwendungsbeispiel 2 — Mikrosäule zur Chromatographie

Die Fig. 1b zeigt die Anordnung mit einem Filterelement (9) und die Füllung der Säule mit einem Chromatographiematerial (10).

Anwendungsbeispiel 3 — Mikrosäule zu Chromatographie mit verschiedenen Chromatographiematerialien

Die Fig. 1c zeigt die Anordnung mit einem Filterelement und zwei verschiedenen Chromatographiematerialien (11 und 12).

Anwendungsbeispiel 4 — Mikrosäule zur Chromatographie und Filtration

Die Fig. 1d zeigt die Anordnung mit einem Filter (4) und einem Chromatographiematerial (10).

Anwendungsbeispiel 5 — Pluralität von Mikrosäulen

Fig. 2 zeigt die Pluralität der Anordnung der Mikrosäulen (1) in Mikrosäulenkammern (13), der Auffanggefäße (8) in Mikrotiterplatten (14) und der Pipettenspitzen in Mehrkanalpipetten (15).

Anwendungsbeispiel 6 — Blutgruppenbestimmung im ABO-System mittels Abtrennung der agglutinierten Partikel durch Filtration

Jeder Säulenteil (6) der Säulen der Mikrosäulenkammer (13), der mit einem Filter (4) mit einer Porengröße von 10 µm vom ausgangsseitigen Teil getrennt ist, wird mit 20 µl Antiserum (Anti-A, Anti-B oder Anti-A + D) gefüllt. In das Antiserum werden 5 µl einer 5%igen Erythrozytensuspension in 0,9% NaCl pipettiert und durch Heben und Senken des Pipettenkolbens gemischt. Die Mikrosäulenkammer wird 10-20 min bei Raumtemperatur inkubiert und danach 30 min bei 250 U/min über einer Mikrotiterplatte (14), die in jedem Loch 100 µl 0,9% NaCl enthält, zentrifugiert. Die Agglutinate verbleiben auf der Filteroberfläche, die nichtagglutinierten Erythrozyten sedimentieren aus dem ausgangsseitigen Teil in die Mikrotiterplatte. Die Mikrotiterplatte wird auf einem horizontal rotierenden Schüttler geschüttelt und in einem Reader bei 405 nm ausgewertet.

Die in der Mikrotiterplatte suspendierten nicht-agglutinierten Erythrozyten weisen die folgenden Extinktionen auf:

Reaktion von A-Erythrozyten

Antiserum	Verdünnung 20 µl	Erythrozyten 5 µl 5%	Extinktion
Anti-B	1 : 4	A	0,8 (= E)
Anti-A	unv.	A	0,03 × E
	1 : 4	A	0,08 × E
	1 : 8	A	0,2 × E
	1 : 16	A	0,5 × E
	1 : 32	A	0,8 × E

Anwendungsbeispiel 7 — Blutgruppenbestimmung im ABO-System mittels Partikelrennung durch Chromatographie

Jeder Säulenteil (6) der Säulen der Mikrosäulenkammer (13) wird mit 30 µl in 0,9% NaCl gequollenem Sephadex G 200 als Chromatographiematerial (10) gefüllt, indem 150 µl einer 20%igen Gelsuspension in die Säulen gefüllt werden und bei 500 U/min für 5 min zentrifugiert werden.

Danach werden 20 µl einer Antiserumverdünnung auf die Geloberfläche pipettiert. Dazu werden 5 µl der 5%igen Erythrozytensuspension pipettiert. Alle Pipettierschritte (Gelsuspension, Antiserumverdünnung, Erythrozytensuspension) werden mit Mehrkanalpipetten (8-, 12- oder 96-fach) (15) vorgenommen.

Nach 10 min Inkubation bei Raumtemperatur werden die Säulenkammern bei 250 U/min für 10 min über einer Mikrotiterplatte zentrifugiert und damit der Säulenauslauf jeder Säule in einem Loch der Mikrotiterplatte, die 100 µl 0,9%iges NaCl pro Loch enthält, aufgefangen.

Die Erythrozytenagglutinate befinden sich nach Zentrifugation auf dem Gel bzw. in den oberen Gelanteilen. Die nicht-agglutinierten Erythrozyten sedimentieren in die Mikrotiterplatte. Die Mikrotiterplatte wird nun mittels eines Schüttlers geschüttelt und danach bei 405 nm in einem Mikrotiterplattenreader oder einem äquivalenten Photometer gemessen.

Die in der Mikrotiterplatte suspendierten nicht-agglutinierten Erythrozyten weisen die folgenden Extinktionen auf:

Reaktion von A-Erythrozyten

Antiserum	Verdünnung 20 µl	Erythrozyten 5 µl 5%	Absorption
Anti-B	1 : 4	A	0,8 (= E)
Anti-A	unverdünnt	A	0,01—0,05 × E
	1 : 4	A	0,02—0,15 × E
	1 : 8	A	0,05—0,3 × E
	1 : 16	A	0,15—0,5 × E
	1 : 32	A	0,3—0,7 × E
	1 : 64	A	0,6—0,8 × E

Anwendungsbeispiel 8 — Coombs-Test nach Abtrennung von störenden Begleitstoffen mittels Chromatographie

Jeder Säulenteil (6) der Säulen der Mikrosäulenkammer (13) wird mit 30 µl in 0,9% NaCl gequollenem Biogel 200 gefüllt, wie in Anwendungsbeispiel 7 beschrieben.

Es werden 20 µl Coombs-Serum (Anti-Human-Glo-

bulin) auf die Geloberfläche pipettiert. 5 µl der ungewaschenen sensibilisierten Erythrozyten aus Vollblut werden aus einer 5%igen Suspension ebenfalls auf die Geloberfläche pipettiert. Die Säulenkammern werden 15–30 min bei Raumtemperatur inkubiert und danach wie in Anwendungsbeispiel 7 zentrifugiert und photometrisch gemessen.

Die mit Coombs-Serum agglutinierten Erythrozyten befinden sich nach der Zentrifugation als scharfe Bande auf der Geloberfläche oder in der oberen Hälfte des Geles. Die nicht-agglutinierten Erythrozyten sedimentieren in die Mikrotiterplatte.

Die in der Mikrotiterplatte suspendierten nicht-agglutinierten Erythrozyten weisen die folgenden Extinktionen auf:

Reaktion von Coombs-positiven O-Erythrozyten

Antiserum	Verdünnung 20 µl	Erythrozyten 5 µl 5%	Extinktion
AHG-Serum	unverdünnt	Coombs + + +	0–0,01
AHG-Serum	unverdünnt	Coombs —	0,16

Anwendungsbeispiel 9 — Bestimmung von Antistreptolysin-Antikörpern mittels Latexagglutination und Partikeltrennung durch Chromatographie

Jeder Säulenteil (6) der Säulen der Mikrosäulenkammer (13) wird mit 30 µl gequollenem Sephadex G200 superfine, wie in Anwendungsbeispiel 7 beschrieben, gefüllt. Auf die Geloberfläche werden 20 µl der zu untersuchenden Serumprobe pipettiert. Dazu werden 5 µl Streptolysin-O-markierte Latexpartikel (1 : 2 in 0,9% NaCl verdünnt, aus Rheumajet ASO, biokit) pipettiert. Nach Inkubation für 10 min bei Raumtemperatur werden die Mikrosäulenkammern wie in Anwendungsbeispiel 6 über einer Mikrotiterplatte zentrifugiert. Die agglutinierten Latexpartikel bleiben auf der Geloberfläche oder in den oberen Gelteilen liegen, die nichtagglutinierten Partikel sedimentieren in die Mikrotiterplatte. Die Mikrotiterplatte wird geschüttelt und in einem Reader bei 380 nm ausgewertet.

Die in der Mikrotiterplatte suspendierten nichtagglutinierten Latexpartikel weisen die folgenden Extinktionen auf:

20 µl Serum	5 µl 1 : 2 verdünnte Partikel	Extinktion
ASO-negativ	Streptolysin-beschichtet	0,6
ASO-positiv	Streptolysin-beschichtet	0,005

Bezugszeichenliste

- 1 Mikrosäule
- 2 eingangsseitiger Teil der Mikrosäule
- 3 ausgangsseitiger Teil der Mikrosäule
- 4 Filter
- 5 Erweiterung im eingangsseitigen Teil
- 6 Säulenteil der Mikrosäule
- 7 Säulendurchlauf
- 8 Auffanggefäß
- 9 Filterelement
- 10 Chromatographiematerial a

- 11 Chromatographiematerial b
- 12 Chromatographiematerial c
- 13 Mikrosäulenkammer
- 14 Mikrotiterplatte
- 15 Mehrkanalpipette

Patentansprüche

1. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen dadurch gekennzeichnet, daß die Reaktionspartner in eine Mikrosäule eingebracht werden, daß die Agglutinationsreaktion in der Mikrosäule erfolgt, daß nach der Agglutinationsreaktion eine Trennung von Agglutinaten und nicht verbrauchten Reaktionspartnern durch Stofftrennung nach Partikelgröße unter Krafteinwirkung erfolgt, daß die nichtagglutinierten Partner unter der Mikrosäule aufgefangen werden, und daß der Verbrauch von Reaktionspartnern im Durchlauf bestimmt wird.
2. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß die Stofftrennung nach Partikelgröße durch Filter mit der Porengröße im Bereich von 1 µm bis 50 µm erfolgt.
3. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß die Stofftrennung nach Partikelgröße durch Geln für die Gelchromatographie vorzugsweise mit Korngrößen im Bereich von 10 µm bis 100 µm erfolgt.
4. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß die Stofftrennung nach Partikelgröße durch Einwirkung der Gravitationskraft realisiert wird.
5. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß die Stofftrennung nach Partikelgröße durch Einwirkung der Zentrifugalkraft erfolgt.
6. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß die Stofftrennung nach Partikelgröße durch Einwirkung von Luftdruck auf die Reaktionsprodukte erfolgt.
7. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß die Stofftrennung nach Partikelgröße durch Einwirkung von Flüssigkeitsdruck auf die Reaktionsprodukte erfolgt.
8. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen dadurch gekennzeichnet, daß die Stofftrennung nach Partikelgröße durch elektrische Felder erfolgt.
9. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen dadurch gekennzeichnet, daß die Stofftrennung nach Partikelgröße durch magnetische Felder erfolgt.
10. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß zumindest einer der Reaktionspartner meßbar markiert ist.
11. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach den Ansprüchen 1 und 10 dadurch gekennzeichnet, daß die Markierung durch radioaktive Isotope erfolgt.
12. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach den Ansprüchen 1 und 10 dadurch gekennzeichnet, daß die Markierung durch Marke-

renzyme erfolgt.

13. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach den Ansprüchen 1 und 10 dadurch gekennzeichnet, daß die Markierung durch Lumineszenzmarker erfolgt.

14. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach den Ansprüchen 1 und 10 dadurch gekennzeichnet, daß die Markierung durch Liganden erfolgt, die spezifisch und hochaffin Komplexe mit Molekülen bilden, die analytisch empfindlich nachweisbar sind.

15. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach den Ansprüchen 1 und 10 dadurch gekennzeichnet, daß die Markierung durch Fluoreszenzmarker erfolgt.

16. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach den Ansprüchen 1 und 10 dadurch gekennzeichnet, daß die Markierung durch Biotin oder Avidin erfolgt.

17. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach den Ansprüchen 1 und 10 dadurch gekennzeichnet, daß die Markierung durch magnetische Partikel erfolgt.

18. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß einer der Reaktionspartner an Zellen gebunden ist.

19. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß einer der Reaktionspartner an Partikel mit einer Korngröße im Bereich von 0,001 µm bis 1 µm gebunden ist.

20. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß die Messung der Menge wenigstens eines der Reaktionspartner im Durchlauf durch Nutzung der natürlichen Eigenschaften wenigstens eines der Reaktionspartner oder von Teilen von ihm erfolgt.

21. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß die Messung der Menge wenigstens eines der Reaktionspartner im Durchlauf durch Nutzung der spezifischen Eigenschaften der Markierung erfolgt.

22. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß zumindest ein Reaktionspartner der Agglutinationsreaktion vor der Agglutination in einem eingangsseitigen Teil der Mikrosäule durch Chromatographie von definierten Begleitstoffen befreit wird und die Agglutination mit dem Reaktionspartner in einem darauffolgenden Teil der Mikrosäule erfolgt.

23. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 und 22 dadurch gekennzeichnet, daß die Begleitstoffe durch Gele für die Stofftrennung nach Größe mit Ausschlußgrenzen größer als 1 00 000 – 10 00 000 abgetrennt werden.

24. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 und 22 dadurch gekennzeichnet, daß die Begleitstoffe durch Gele, die spezifische Immunoliganden tragen, abgetrennt werden.

25. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 und 22 dadurch gekennzeichnet, daß die Begleitstoffe durch Ionenaustauschgele abgetrennt werden.

26. Verfahren zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 1 und 22 dadurch gekennzeichnet,

zeichnet, daß die Abtrennung der Begleitstoffe durch Gele, die Lektine tragen, erfolgt.

27. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen dadurch gekennzeichnet, daß eine Mikrosäule (1), bestehend aus einem eingangsseitigen Teil (2) und einem ausgangsseitigen Teil (3), die durch ein flüssigkeitsdurchlässiges Filterelement (9, 4), welches für die freien Reaktionspartner durchlässig ist, voneinander getrennt sind, paßfähig über einem Auffanggefäß (8) lösbar angeordnet ist.

28. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 27 dadurch gekennzeichnet, daß sich in dem eingangsseitigen Teil der Mikrosäule (2) Chromatographiematerialien (10, 11, 12) befinden.

29. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 27 dadurch gekennzeichnet, daß diese Chromatographiematerialien Molekularsiebgele sind, die vorzugsweise aus Dextranen, Agarose oder Polyacrylamid hergestellt sind.

30. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach den Ansprüchen 27 und 28 dadurch gekennzeichnet, daß sich in dem eingangsseitigen Teil der Mikrosäule verschiedene Chromatographiematerialien in mehreren Schichten befinden.

31. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 27 und 28 dadurch gekennzeichnet, daß die Chromatographiematerialien Molekularsiebgele, Gele für die Affinitätschromatographie, Gele für die Immunosorbentchromatographie und Gele für die Ionenaustauschchromatographie sind.

32. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 27 dadurch gekennzeichnet, daß im eingangsseitigen Teil der Mikrosäule eine Erweiterung (7) zum Einbringen und Mischen der Reaktanden vorgesehen ist.

33. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 27 dadurch gekennzeichnet, daß die flüssigkeitsdurchlässigen Filterelemente durchlässig für Zellen aber undurchlässig für Chromatographiematerialien sind.

34. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 27 dadurch gekennzeichnet, daß die Filterelemente Filter mit Porengrößen vorzugsweise im Bereich von 0,001 µm bis 50 µm sind.

35. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 27 dadurch gekennzeichnet, daß das Auffanggefäß zumindest in seinem Bodenteil aus einem Material besteht, welches die optische Auswertung des Durchlaufs gestattet.

36. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 22 dadurch gekennzeichnet, daß die Mikrosäulen Säulen mit einem Innendurchmesser von 0,5 mm bis 3,0 mm und einer Länge von 5 mm bis 50 mm sind.

37. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 27 dadurch gekennzeichnet, daß eine Pluralität von Mikrosäulen und Auffangbehältern paßfähig zueinander in Reihen angeordnet ist.

38. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 27 dadurch gekennzeichnet, daß eine Pluralität von Mikrosäulen und Auffangbehältern in Form einer Matrixanordnung zueinander paßfähig ist.

39. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsre-

aktionen nach Anspruch 27 und 38 dadurch gekennzeichnet, daß die Auffanggefäße Mikrotiterplatten sind.

40. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach den Ansprüchen 27, 37 und 38 dadurch gekennzeichnet, daß die Pluralität von Mikrosäulen und Auffangbehältern paßfähig zu einem Zentrifugenrotor ausgebildet ist. 5

41. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 27 dadurch gekennzeichnet, daß an den Mikrosäulen eingangsseitig ein Innenkonus zur Aufnahme eines paßfähigen Pipettenkonus vorgesehen ist. 10

42. Anordnung zur Analyse von Agglutinationsreaktionen nach Anspruch 27 und 39 dadurch gekennzeichnet, daß die Messung des Durchlaufs in Mikrotiterplatten mit kommerziellen Readern erfolgt. 15

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

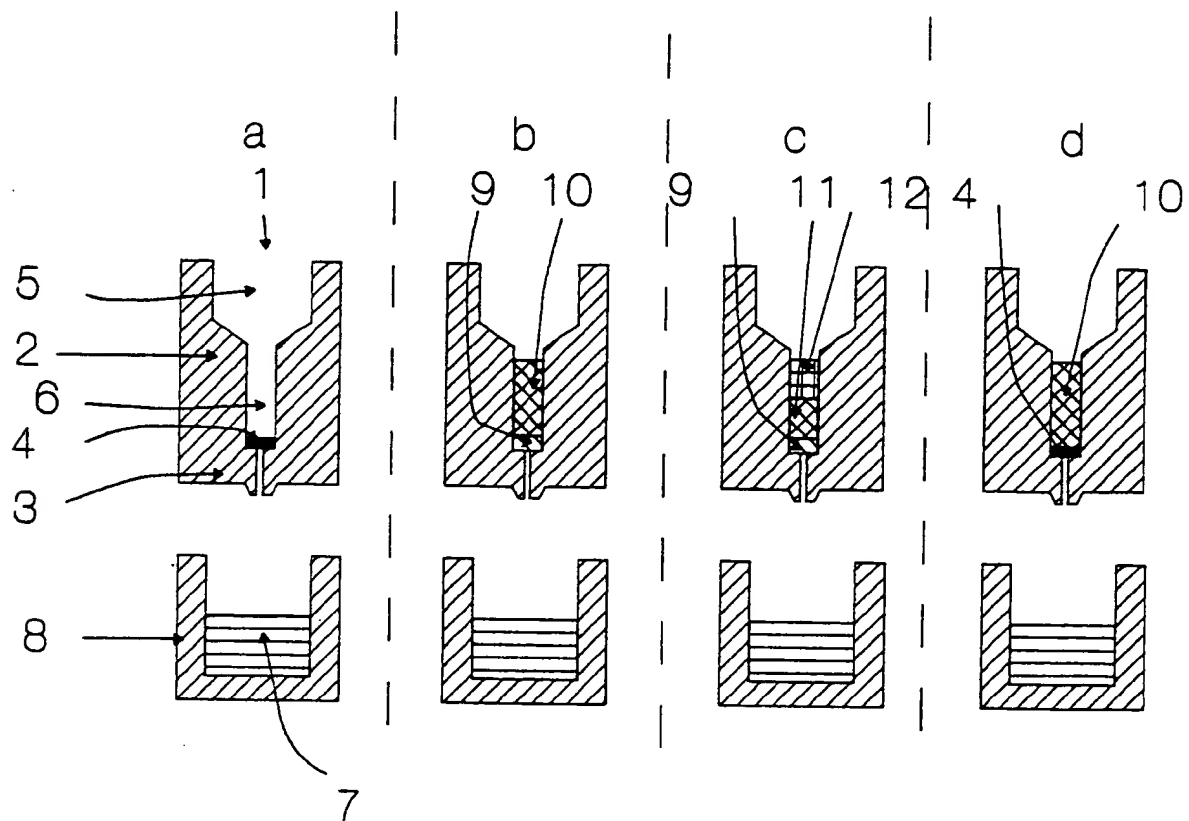


Fig. 1

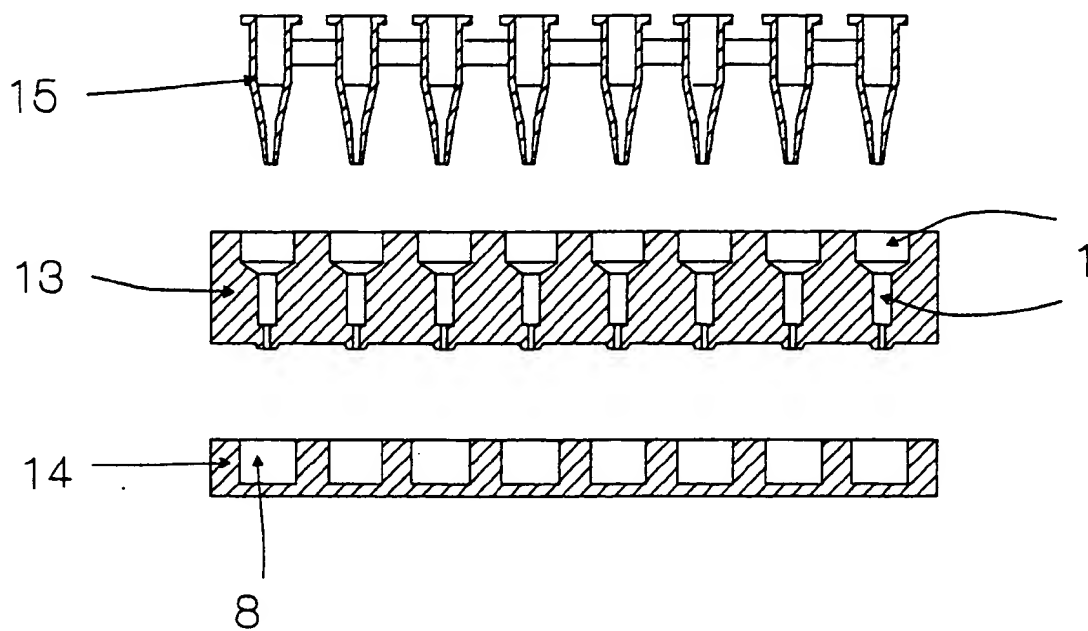


Fig. 2